

ANALISIS EFEKTIVITAS DAUN BOTTO-BOTTO (*CHROMOLAENA ODORATA* L) TERHADAP *ARTEMIA SALINA* LEACH YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN ANTIKANKER

Mukhriani, Andi Armisman Edy Paturusi, Muh. Fitrah Ilyas, Dwi Wahyuni Leboe
Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang analisis efektivitas daun botto-botto (*Chromolaena odorata* L) terhadap *Artemia salina* Leach yang berpotensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan menentukan LC₅₀ ekstrak, fraksi, dan isolat daun botto-botto dengan terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *brine shrimp lethality test* (BST). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm memiliki efek yang paling besar terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ = 295,7 µg/ml, selanjutnya ekstrak etil asetat difraksinasi menggunakan kromatografi Cair Vakum menghasilkan 4 fraksi dan fraksi C memiliki toksisitas 4,697 µg/ml. Selanjutnya fraksi C difraksinasi kembali menggunakan kromatografi Cair Vakum menghasilkan 5 fraksi dan diperoleh fraksi C3 memiliki toksisitas sebesar 0,044 µg/ml dan fraksi C10 memiliki toksisitas sebesar 2,05 µg/ml. Selanjutnya fraksi C3 di isolasi menggunakan metode KLTP mendapatkan isolat A dan C8 mendapatkan isolat B. Isolat A dan B diuji kembali aktivitas antikankernya dengan konsentrasi 100 ppm, 10 ppm, dan 1 ppm. Diperoleh LC₅₀ isolat A sebesar 0,601 µg/ml dan aktivitas antikanker isolat B sebesar 1,060 µg/ml. Hasil uji fitokimia isolat A dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan positif terpenoid. Identifikasi isolat A dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan satu pita serapan pada panjang gelombang 307 nm. Identifikasi isolat dengan inframerah menunjukkan gugus OH pada daerah bilangan gelombang 3444,87 cm⁻¹, gugus CH alifatik pada bilangan gelombang 2929,87 cm⁻¹ dan 2862,36 cm⁻¹, gugus C=O pada bilangan gelombang 1768,72 cm⁻¹, C=C pada bilangan gelombang 1651,07 cm⁻¹, CH₂ bending dan CH₃ bending pada bilangan gelombang 1448,54 cm⁻¹ dan 1369,46 cm⁻¹ dan gugus CO alkohol pada bilangan gelombang 1192,01 cm⁻¹. Berdasarkan hasil uji fitokimia dan analisis spektrofotometri, diduga isolat dari daun botto-botto adalah senyawa golongan terpenoid yang berpotensi sebagai antikanker, dengan gugus fungsi OH, CH alifatik, C=O, C=C, dan C-O alkohol.

Kata Kunci : efektivitas, daun botto-botto, *Artemia salina*, antikanker

PENDAHULUAN

Kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak normal atau terus menerus dan tidak terkendali, dapat merusak jaringan disekitarnya serta dapat menjalar ketempat yang jauh dari asalnya. Pembelahan sel yang meningkat mengindikasikan adanya sel kanker. Kanker disebut juga neoplasma, ialah penyakit pertumbuhan sel yang terjadi karena dalam tubuh timbul dan berkembang biak sel-sel baru yang bentuk, sifat dan kinetiknya berbeda dari sel normal asal. Sel yang baru itu liar, terlepas dari kendali pertumbuhan normal sehingga merusak bentuk dan fungsi organ yang terkena. Sel neoplasma terjadi karena ada mutasi atau transformasi sel normal akibat adanya kerusakan gen yang mengatur pertumbuhan dan differensiasi sel (Sundayani, 2013: 12).

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa penyakit kanker merupakan masalah kesehatan diberbagai Negara termasuk Indonesia.

Berdasarkan data Globocan, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2002, Di Indonesia, hasil pemeriksaan patologi menyatakan lima kanker terbanyak adalah kanker leher rahim, payudara, kelenjar getah bening, kulit dan nasofaring (Harianto, 2005).

Berbagai macam senyawa telah dikembangkan melawan kanker yang meliputi senyawa-senyawa pengalkilasi, antimetabolit, obat-obat radiomimetik, hormon dan senyawa antagonis. Akan

tetapi tak satupun jenis senyawa-senyawa ini menghasilkan efek yang memuaskan dan tanpa efek samping yang merugikan. Oleh karena itu mulai banyak dilakukan penelitian tentang bahan obat antikanker yang berasal dari alam. Keunggulan obat bahan alam adalah memiliki efek samping yang relatif kecil bila digunakan dengan benar dan tepat.

Tumbuhan daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) dapat dijadikan sebagai obat kanker. Tumbuhan ini dianggap sebagai tumbuhan yang tidak diinginkan pada lahan pertanian karena menurunkan hasil produksi tanaman padang rumput dan perkebunan, selain itu menyebabkan kematian ternak dan meracuni daun serta tunas muda tanaman perkebunan (Prawiradiputra, 2007).

Brine Shrimp Lethality Test merupakan salah satu metode *bioassay* yang dipertimbangkan sebagai uji pendahuluan toksisitas dan digunakan untuk mendeteksi racun jamur, toksisitas ekstrak tanaman, logam berat, pestisida dan uji sitotoksitas bahan pembuatan pasta gigi (Khrisnaraju, 2006).

Metode ini sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tanaman karena murah, mudah (tidak perlu kondisi aseptis) dan dapat dipercaya. Lebih dari itu larva udang ini digunakan untuk praskrining senyawa yang berkhasiat sebagai antitumor. Dengan kata lain uji ini mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker. Sifat

sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ setelah waktu kontak 24 jam (Indrayani, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) sebagai uji pendahuluan untuk senyawa antikanker.

METODE PENELITIAN

1. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) diperoleh di Desa Pacellekang, Kecamatan Pattalassang, Kab. Gowa, Sulawesi Selatan Daun yang digunakan adalah seluruh daun yang tidak rusak dan tidak berjamur. Daun yang telah diambil, dicuci hingga bersih dengan air mengalir, dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung kemudian diserbukkan.

2. Ekstraksi, Fraksi dan Pemurnian

Simplisia daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) sebanyak 1.000 gram. Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dengan penyari pertama dengan n-heksan selama 1 x 24 jam, proses maserasi diulangi sebanyak 3 kali. Ekstrak n-heksan yang diperoleh dipisahkan dengan alat rotavapor.

Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat lalu dilanjutkan dengan metanol dengan cara yang sama dengan pelarut n-heksan. Ekstrak yang diperoleh diuji BST, ekstrak teraktif selanjutnya di fraksi dan diuji BST, Fraksi teraktif selanjutnya diisolasi hingga didapat isolat murni.

Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom cair vakum dengan fase diam silika gel dan fase gerak pelarut dengan gradien kepolaran semakin meningkat berdasarkan propil KLT. Fraksi-fraksi yang diperoleh diupayakan kemudian di KLT. Fraksi yang memiliki kesamaan profil KLT digabung. Fraksi gabungan digunakan sebagai sampel uji aktivitasnya.

Fraksi yang memiliki aktivitas terbaik selanjutnya di isolasi dengan metode KLTP menggunakan fase diam selika gel 60 GF 254. Fraksi kemudian ditotol pada lempeng KLTP ukuran 20 x 20 cm kemudian dielus dengan fase gerak. Pita-pita diamati dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm dikeruk dan diuji BST dan dimurnikan.

3. Uji Brine Shrimp Lethality Test

a. Pemilihan telur *Artemia salina* Leach

Pemilihan telur udang dilakukan dengan merendam telur dalam aquadest selama satu jam. Telur yang baik akan mengendap sedangkan telur yang kurang baik akan mengapung.

b. Penyiapan larva *Artemia Salina*
Leach

Penyiapan larva udang dilakukan dengan menetasakan telur udang 48 jam sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut secukupnya dengan menerangi bagian wadah yang tidak ditempati telur udang dengan sinar lampu.

c. Pelaksanaan uji toksisitas dan perhitungan LC 50

Ekstrak dan fraksi yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 10, 100, dan 1000 ppm dalam 5 ml air laut dan dibuat dalam 5 replikasi. Larva udang 48 jam yang digunakan untuk masing-masing konsentrasi berjumlah 10 ekor untuk tiap vial. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung persentase kematian. Perhitungan LC₅₀ menggunakan analisis probit.

Persentase kematian =

$$\frac{\text{Jumlah kematian} - \text{jumlah metian kontrol}}{\text{Blanko}} \times 100\%$$

4. Identifikasi Senyawa Antikanker

a. Identifikasi Bercak Aktif dengan Kromatogram disemprot menggunakan pereaksi semprot :

1) Alkaloid

Pereaksi yang digunakan Dragendorff akan dihasilkan warna jingga dengan latar belakang kuning untuk senyawa golongan alkaloida

2) Steroid

Pereaksi yang digunakan Liebermann-Burchard. Kromatogram

terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati di lampu UV. Munculnya noda berfluoresensi coklat atau biru menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

3) Flavanoid

Pereaksi yang digunakan Aluminium klorida 5% diamati di lampu UV, akan dihasilkan noda berfluoresensi kuning untuk senyawa golongan flavonoid.

4) Fenol

Pereaksi yang digunakan Besi (III) Klorida 5% akan dihasilkan warna biru atau hitam untuk senyawa golongan fenol.

5) Penampak bercak H₂SO₄

Kromatogram dipanaskan pada 105 °C selama 5 menit dan diamati. Kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, coklat, hitam

- b. Identifikasi dengan Spektrofotometri Ultra Violet (UV) –Visibel
- c. Identifikasi dengan Spektrofotometri Infra Red

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi dari Ekstrak n-Hexan, etil asetat, dan ekstrak metanol Daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi Daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.)

Bobot sampel (gram)	Bobot Ekstrak (gram)		
	n-Heksan	Etil Asetat	Metanol

1000 gram	40	73	102
-----------	----	----	-----

Masing-masing ekstrak (Ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol) diuji pendahuluan sebagai obat kanker dengan metode Brine Shrimp Lethality Test dengan menggunakan larva udang dan diuji dengan 5 replikasi setiap konsentrasi. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas ekstrak Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* L)

Ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang mati	Jumlah larva uji	Kematian larva (%)	LC ₅₀ (µg/ml)
n-Heksan	10	1	50	2	1481,6
	100	3	50	6	
	1000	25	50	50	
Etil asetat	10	1	50	2	295,7
	100	21	50	42	
	1000	35	50	68	
Metanol	10	1	50	2	1820,2
	100	13	50	26	
	1000	17	50	34	
Kontrol air laut		0	50	0	
Kontrol pelarut		0	50	0	

Dari hasil uji pendahuluan menunjukkan ekstrak etil asetat sebagai ekstrak teraktif dengan nilai LC₅₀ sebesar 295,7 µg/ml. Ekstrak difraksinasi menggunakan kromatografi kolom cair vakum (KCV) memakai fase diam silika gel G 60 dan fase gerak dengan gradien kepolaran yang meningkat yaitu berturut-turut, n-heksan:etil asetat 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 1:1, 1:5, etil asetat, Etil asetat : Metanol 10:1, Metanol. Masing-masing fraksi dimonitor komponen kimianya

dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak n-Hexan : etil asetat (5:1). Hasil fraksinasi menunjukkan diperoleh 4 fraksi gabungan yaitu Fraksi A (10 gram), fraksi B (36 gram), fraksi C (14 gram) dan fraksi D (8 gram)

Setiap fraksi gabungan yang diperoleh diuji toksisitasnya dengan metode Brine Shrimp Lethality Test dengan menggunakan larva udang dan diuji dengan 5 replikasi setiap konsentrasi. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas fraksi Daun Botto-Botto (*Chromolaena Odorata* L)

Ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang mati	Jumlah larva uji	Kematian larva (%)	LC ₅₀ (µg/ml)
Fraksi A	10	1	50	2	1100,03
	100	13	50	26	
	1000	21	50	42	
Fraksi B	10	15	50	30	695,19
	100	20	50	40	
	1000	26	50	52	
Fraksi C	10	35	50	70	4,69
	100	42	50	84	
	1000	48	50	96	
Fraksi D	10	11	50	22	1122,37
	100	15	50	30	
	1000	26	50	52	
Kontrol air laut		0	50	0	
Kontrol pelarut		0	50	0	

Dari hasil uji toksisitas menunjukkan fraksi C sebagai ekstrak teraktif dengan nilai LC₅₀ sebesar 4,69 µg/ml. Karena komponen kimia pada fraksi C masih banyak, maka fraksi C difraksinasi kembali menggunakan kromatografi kolom cair vakum (KCV)

memakai fase diam silika gel G 60 dan fase gerak dengan gradien kepolaran yang meningkat yaitu berturut-turut, n-heksan:etil asetat 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, etil asetat, Etil asetat : Metanol 10:1, Metanol. Masing-masing fraksi dimonitor komponen kimianya dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak n-Hexan : etil asetat (1:5).

Selanjutnya fraksi C1, C3, C8, C10 dan C14 yang diperoleh diuji toksisitasnya dengan metode Brine Shrimp Lethality Test dengan menggunakan larva udang dan diuji dengan 5 replikasi setiap konsentrasi. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Toksisitas fraksi Daun Botto-Botto (*Chromolaena Odorata* L)

Ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang mati	Jumlah larva uji	Kematian larva (%)	LC ₅₀ (µg/ml)
Fraksi C1	10	35	50	70	3.29
	100	41	50	82	
	1000	46	50	92	
Fraksi C3	10	43	50	86	0.044
	100	48	50	96	
	1000	49	50	98	
Fraksi C8	10	32	50	64	2.05
	100	46	50	92	
	1000	48	50	96	
Fraksi C10	10	41	50	82	0.053
	100	46	50	92	
	1000	48	50	96	
Fraksi C14	10	34	50	68	0.676
	100	44	50	88	
	1000	46	50	92	
Kontrol air laut		0	50	0	
Kontrol pelarut		0	50	0	

Isolasi fraksi aktif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif. Fraksi

C3 diisolasi dengan metode kromatografi Lapis Tipis Preparatif menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak n-Hexan : Etil asetat (2:1). Pita pemisahan yang diperoleh dikerok kemudian dilarutkan dalam etil asetat p.a. Selanjutnya dipisahkan antara komponen kimia dengan silika gel dengan cara disaring.

Fraksi C10 diisolasi dengan metode kromatografi Lapis Tipis Preparatif menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak n-Hexan : Etil asetat (1:1). Pita pemisahan yang diperoleh dikerok kemudian dilarutkan dalam etil asetat p.a. Selanjutnya dipisahkan antara komponen kimia dengan silika gel dengan cara disaring.

Selanjutnya isolat A dan isolat B yang diperoleh diuji toksisitasnya dengan metode Brine Shrimp Lethality Test dengan menggunakan larva udang dan diuji dengan 5 replikasi setiap konsentrasi. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Toksisitas Isolat A Daun Botto-Botto (*Chromolaena Odorata* L)

Ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang mati	Jumlah larva uji	Kematian larva (%)	LC ₅₀ (µg/ml)
Isolat A	1	28	50	56	0.601
	10	45	50	90	
	100	49	50	98	
Isolat B	1	28	50	56	1.061
	10	36	50	72	
	100	48	50	96	
Kontrol air laut		0	50	0	
Kontrol pelarut		0	50	0	

Hasil analisis isolasi dari Daun Botto-Botto menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dengan noda hijau kebiruan dengan nilai Rf 0,38.

a) Spektroskopi UV-Vis

Hasil analisis dengan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 307. Isolat A selanjutnya dikarakterisasi dengan spektra UV untuk mengetahui panjang gelombang suatu senyawa. Isolat A memiliki 2 puncak, yaitu pada panjang gelombang 307 nm (pita I), dan 206 nm (pita II). Adanya serapan pada gelombang 307 nm (pita I) menunjukkan bahwa isolat A mengalami transisi elektronik $n-\pi^*$ dapat dijadikan asumsi awal adanya ikatan rangkap dalam struktur isolat A. Kemungkinan serapan tersebut dapat ditimbulkan akibat adanya ikatan C=C, hal ini didukung dengan pita pada IR pada bilangan gelombang 1651,07. Sedangkan 208 nm (pita II) kemungkinan disebabkan oleh ikatan CH (Juliana, V., dkk. 2010).

b) Spektroskopi IR

Interprestasi data spektra Infra Red (IR). Dimana terlihat pita serapan yang melebar pada bilangan gelombang terlihat pita serapan yang melebar pada bilangan gelombang sekitar $3444,87\text{ cm}^{-1}$ diduga adanya regangan O-H, yang membentuk ikatan hidrogen antarmolekuler dan biasanya muncul pada daerah bilangan $3500-3200\text{ cm}^{-1}$. Dugaan ini diperkuat dengan munculnya serapan

C-O pada bilangan gelombang $1300-1000\text{ cm}^{-1}$ (Sitorus, M. 2009).

Pita serapan pada bilangan gelombang 2929 cm^{-1} dan 2852 cm^{-1} merupakan serapan dari C-H alifatik, yang biasanya muncul pada bilangan gelombang $3000-2700\text{ cm}^{-1}$. Dugaan ini diperkuat dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang $1448,54\text{ cm}^{-1}$ dan $1369,46\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan serapan CH₂ bending dan CH₃ bending.

Data spektra isolat A menunjukkan terdapat serapan gugus C=O yang akan memunculkan serapan pada interval $1820-1600\text{ cm}^{-1}$ hal ini pada bilangan gelombang $1768,72\text{ cm}^{-1}$. Alkena biasanya terabsorpsi pada bilangan gelombang $1651,07\text{ cm}^{-1}$. Pada bilangan gelombang, 1192 cm^{-1} dan 1114 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan C-O alcohol.

KESIMPULAN

1. Isolat A daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) memiliki toksisitas sebesar $LC_{50} 0.601\text{ }\mu\text{g/ml}$
2. Hasil uji fitokimia dan analisis spektrofotometri, diduga isolat dari daun botto-botto adalah senyawa golongan terpenoid yang berpotensi sebagai antikanker, dengan gugus fungsi OH, CH alifatik, C=O, C=C, dan C-O alcohol.

KEPUSTAKAAN

Harianto. *Risiko Penggunaan Pil Kontrasepsi Kombinasi Terhadap Kejadian Kanker Payudara pada Reseptor KB di Perjan RS Dr. Cipto Mangunkusumo*. April 2005

- Indrayani, L., Soetjipto, H., dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pucut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Berk. Penel. Hayati. Vol.12.
- Meyer, B.N, Ferrigni, N. R. Ferrigni, J. E Putnam, L. B. Jascobsen, D. E. Nicholas, and J.L Mc Laughlin.1982. *Brine Shrimp : A Convenient Bioassay for Active Plant Constituents*. J. Of Med. Plant Research Planta Med, USA.
- Krisnaraju, Alluri V,et al. , 2006. "Biological Screening of Medicinal Plants Collected From Eastern Ghats of India Using *Artemia Salina* (Brine Shrimp Test)" *Internasional Journal of Applied Science and Engineering*. Vol.4.
- Prawiradiputra, Bambang R. *Ki Rinyuh (Chromolaena odorata (L.) R. M. King & H. Robinson)*: 2007.*Gulma Padang Rumput Yang Merugikan*. Bogor: Balai Penelitian Ternak.
- Sitorus, M. 2009. *Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sundayani, lina. 2013. *Potensi Filtrat Buah Buni (Antidesma bunius) Terhadap Aktivitas Penghambatan Tahap Pembelahan Sel Embrio Bulu Babi (Diadema antillarum)*. *Jurnal Media Bina Ilmiah Politeknik Kesehatan Kemenkes Mataram* 7 no.3